

## メトコナゾール試験法（農産物）

### 1. 分析対象化合物

メトコナゾール（シス体及びトランス体）

### 2. 装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC-FTD）又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC-NPD）

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

### 3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

メトコナゾール（シス体）標準品 本品はメトコナゾール（シス体）98%以上を含み、融点は110～113℃である。

メトコナゾール（トランス体）標準品 本品はメトコナゾール（トランス体）98%以上を含み、融点は110～113℃である。

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

##### (1) 穀類の場合

試料10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて40℃以下で約30 mLまで濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に*n*-ヘキサン50 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル50 mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かす。

##### (2) 果実の場合

果実（みかんの果皮を除く）の場合は、試料20.0 gを量り採る。みかんの果皮の場合は、試料10.0 gを量り採る。

これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を

合わせて 40℃以下で約30 mLまで濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かす。

## 2) 精製

### (1) グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) にアセトン10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに、1) で得られた溶液を注入した後、さらにアセトン15 mLを注入する。全溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 9) 混液5 mLを加えて溶かす。

### (2) アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 9) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに (1) で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 9) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液15 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に2 mL (穀類の場合は1 mL、みかんの果皮の場合は10 mL) としたものを試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

メトコナゾール (シス体) 標準品及びメトコナゾール (トランス体) 標準品の各0.05~1.0 mg/Lアセトンの混合標準溶液を数点調製し、それぞれ2 µLをGCに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

## 6. 定量

試験溶液2 µLをGCに注入し、5の検量線でメトコナゾール (シス体) 及びメトコナゾール (トランス体) の含量を求め、メトコナゾール (シス体) 及びメトコナゾール (トランス体) の和としてメトコナゾールの含量を求める。

## 7. 確認試験

GC/MSにより確認する。

## 8. 測定条件

### 1) GC

検出器：FTD又はNPD

カラム：メチルシリコン、内径 0.53 mm、長さ 30 m、膜厚 1 μm

カラム温度：150℃（1分）－10℃/分－280℃（1分）

注入口温度：280℃

検出器温度：320℃

キャリアーガス：ヘリウム

保持時間の目安：メトコナゾール（シス体）11.4分、メトコナゾール（トランス体）11.7分

## 2) GC/MS

カラム：5%フェニルーメチルシリコン 内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm

カラム温度：150℃（1分）－10℃/分－300℃（1分）

注入口温度：250℃

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード（電圧）：EI（70eV）

主なイオン（ $m/z$ ）：319、250、125（シス体及びトランス体とも共通） 注入量：1 μL

保持時間の目安：メトコナゾール（シス体）13.5分、メトコナゾール（トランス体）13.8分

## 9. 定量限界

メトコナゾール（シス体）及びメトコナゾール（トランス体）の総和として0.01 mg/kg（みかんの果皮の場合は、0.1 mg/kg）

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

メトコナゾール（シス体）及びメトコナゾール（トランス体）を試料からアセトンで抽出し、酢酸エチル及び $n$ -ヘキサン混液に転溶する。果実はそのまま、穀類はアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、グラファイトカーボンミニカラム及びアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、GC（FTD又はNPD）で測定し、GC/MSで確認する方法である。

### 2) 注意点

(1) 液々分配においてエマルジョン等により分配が不良となる場合は、多孔性ケイソウ土カラム（試料20 mL用）を利用する方法に変更するとよい。操作概要：試料抽出液を約20 mLまで濃縮し、カラムに負荷した後、 $n$ -ヘキサン120 mLで溶出する。

(2) 精製が不十分な場合は、フロリジルミニカラム (910 mg) による精製を追加するとよい。操作概要： 残留物をアセトン及び*n*-ヘキサン (1 : 9) 混液5 mLに溶解し、カラムに負荷した後、アセトン及び*n*-ヘキサン (1 : 9) 混液10 mLで洗浄、アセトン及び*n*-ヘキサン (3 : 7) 混液15 mLで溶出する。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C